Fachbereich Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin
Fachrichtung Mikrobiologie

Untersuchungen über Salmonella-Keimzahlen in natürlich und künstlich infizierten Hundekotproben

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Abdulfattah Boargob
Tierarzt aus Soluk/Libyen

Berlin 1975
Journal-Nr. 864

Fachbereich Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin
Fachrichtung Mikrobiologie

Untersuchungen über Salmonella-Keimzahlen in natürlich und künstlich infizierten Hundekotproben

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Abdulfattah Boargob

Tierarzt aus Soluk/Libyen

Berlin 1975
Journal-Nr. 864

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Vorsitzender des FBR:	Prof. Dr. H. Loppnow
Referent:	Prof. Dr. H. Hartwigk
Korreferent:	Prof. Dr. H.-J. Sinell

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der Promotion: 12.9.1975

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
1. EINLEITUNG	5
2. LITERATUR	6
2.1. Methoden zum Nachweis von Salmonellen in Hundekot	6
2.2. Die Salmonellose des Hundes als Infektionskrankheit und ihre klinische und epidemiologische Bedeutung	7
2.3. Technik der Keimzählung	10
2.4. Lebensdauer der Salmonellen in verschiedenen Medien und bei verschiedenen Temperaturen	12
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	15
3.1. ERSTER ABSCHNITT	15
3.1.1. Material	15
3.1.2. Methoden	16
3.1.2.1. Bakteriologische Untersuchung der Kotproben auf Salmonellen; qualitativer Nachweis	16
3.1.2.2. Salmonella-Keimzahlbestimmung	17
3.2. UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE (ERSTER ABSCHNITT)	20
3.2.1. Salmonella-Nachweis bei 312 Hundekotproben	20
3.2.2. Salmonella-MPN-Keimzahlen in den 32 salmonella-positiven Hundekotproben	21
3.3. ZWEITER ABSCHNITT	22
3.3.1. Material	22
3.3.2. Methoden	23
3.4. UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE (ZWEITER ABSCHNITT)	24
4. DISKUSSION	27
5. ZUSAMMENFASSUNG	30
6. SUMMARY	31
7. LITERATURVERZEICHNIS	32

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1. EINLEITUNG 5

2. LITERATUR 6

2.1. Methoden zum Nachweis von Salmonellen
in Nutzeiern 6

2.2. Die Salmonellose des Menschen als Infektions-
krankheit und ihre klinische und epidemiolo-
gische Bedeutung 7

2.3. Technik der Keimzählung 10

2.4. Lebensdauer der Salmonellen in verschiedenen
Medien und bei verschiedenen Temperaturen 12

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN 15

3.1. Eigener Ansatz 15

3.1.1. Material 15

3.1.2. Methoden 16

3.1.2.1. Bakteriologische Untersuchung der
Kotproben auf Salmonellen,
qualitativer Nachweis 16

3.1.2.2. Salmonella-Nachweis (Direkt Ass.-Test) 20

3.1.3. Salmonella-Nachweis bei 312 mumifizierten
Embryonen 20

3.1.3.1. Salmonella-Nachweis in 240
Kotproben 21

3.2. Ergebnisse 23

3.2.1. Material 23

3.2.2. Methoden 23

3.2.3. Ergebnisse (Direkt Ass.-Test) 24

4. DISKUSSION 27

5. ZUSAMMENFASSUNG 30

6. SUMMARY 31

7. LITERATURVERZEICHNIS 32

1. EINLEITUNG

Das relativ häufige Vorkommen von Salmonellen im Kot von Hunden gab Anlaß zu prüfen, mit welchen Salmonella-Keimzahlen im Kot natürlich infizierter Hunde zu rechnen ist und welche epidemiologische Bedeutung der Befunde sich hieraus ergibt.

Im ersten Abschnitt sollte eine größere Zahl von Hundekotproben zunächst qualitativ auf das Vorkommen von Salmonellen geprüft werden. Soweit die Kotproben Salmonellen enthielten, wurden an den Kotproben nach 4 - 5 tägiger Aufbewahrung bei -22° C Salmonella-Keimzahlbestimmungen vorgenommen.

Im zweiten Abschnitt wurden Untersuchungen zur Überprüfung der im ersten Abschnitt bei natürlich infizierten Hunden im Kot ermittelten Keimzahlen durchgeführt. Die Untersuchungen dienten zur Klärung der Frage, ob durch die Aufbewahrung des Kotes bei -22° C bis zur Keimzählung eine Reduktion der Keimzahlen eintritt.

2. LITERATUR

2.1. Methoden zum Nachweis von Salmonellen in Hundekot

Obwohl seit Jahren an der Verbesserung der Untersuchungsmethoden zum Nachweis von Salmonellen gearbeitet worden ist und diese Bemühungen zu beachtlichen Erfolgen geführt haben, kann der Auffassung von LEISTNER et al. (1962), daß es eine optimale Methode nicht gibt, nur beigepflichtet werden. Art und Menge des Untersuchungsmaterials beeinflussen das Ergebnis bei Verwendung von Anreicherungsnährböden erheblich. Dies erklärt, daß nicht alle Verbesserungsvorschläge einer Kritik standhielten.

LEISTNER et al. (1962) haben sich eingehend mit diesen Fragen beschäftigt und betont, daß es bei Kotuntersuchungen sehr auf die Tierart ankommt, von der der Kot stammt. Die Zusammensetzung der Anreicherungsmedien, Bebrütungstemperaturen und -zeiten sowie die für die Beimpfung verwendete Kotmenge spielen für den Nachweis der Salmonellen eine Rolle.

TESFAMARIAM (1973) hat die wichtigsten für die Untersuchung von Hundekotproben auf Salmonellen empfohlenen Methoden erwähnt und durch eigene Untersuchungen ergänzt. Er bediente sich zunächst eines Resuscitations-Mediums zur Aktivierung eventuell geschädigter Salmonellen. Dabei beimpfte er 50 ml des Mediums mit 3 g Kot. Nach Homogenisierung bewahrte er das Substrat 3 Std. bei 20 - 25° C auf, um dann je 3 ml auf je 10 ml Tetrathionat- und Selenitbrühe zu übertragen. Beide Medien verwendete er doppelt, damit er die eine Bouillon bei 37° C und die andere Brühe bei 43° C 24 und 48 Std. bebrüten konnte. Von jeder Anreicherung überimpfte er je 0,02 ml auf die Hälfte einer Brillantgrün-Phenolrot-Laktose- und Lackmus-Laktose-Agarplatte. Die Isolierung und Differenzierung salmonellenverdächtiger Kolonien erfolgte in der üblichen Weise. In einer besonderen Versuchsreihe verzichtete der Autor auf

das Resuscitations-Medium, indem er je 1 g Kot auf Röhrchen mit 10 ml Tetrathionat- und Selenitbrühe gab und diese Röhrchen bei 37° und 43° C über 24 und 48 Std. bebrütete. TESFAMARIAM stellte fest, daß die Verwendung des Resuscitations-Mediums für den Nachweis von Salmonellen nützlich war und die Verwendung der Tetrathionatbrühe bei natürlich infizierten Hundekotproben zu häufigeren Salmonellennachweisen führte als die Verwendung von Selenitbrühe. Besonders günstig erwies sich die Bebrütung der Tetrathionatbouillon bei 43° C über 24 Std. Wie auch von zahlreichen anderen Autoren bestätigt, war die Brillantgrün-Phenolrot-Laktose-Agarplatte bei der Isolierung der Salmonellen aus den Anreicherungsmedien der Lackmus-Laktose-Agarplatte weit überlegen.

KOOPMANN und JANSSEN (1972) kamen bei bakteriologischen Untersuchungen von Hunde- und Katzenkotproben schon vor TESFAMARIAM zu ähnlichen Ergebnissen, erzielten aber mit einer Natriumtetrathionat-Brillantgrün-Galle-Brühe mit einer Bebrütung bei 37° C mehr positive Ergebnisse als mit einer Bebrütung bei 43° C. Diese Diskrepanz findet möglicherweise ihre Erklärung durch die Verwendung einer anderen Modifikation der Tetrathionatbrühe sowie die Nichtanwendung des Resuscitations-Mediums.

FÖRSTER, HOLLAND und TESFAMARIAM (1974) verzichteten auf eine Aktivierung der Salmonellen durch das Resuscitations-Medium, benutzten aber sonst die gleiche Technik wie TESFAMARIAM (1973).

2.2. Die Salmonellose des Hundes als Infektionskrankheit und ihre klinische und epidemiologische Bedeutung

Die Häufigkeit des Nachweises von Salmonellen in Kot- und Organproben von Hunden schwankt bei den Untersuchungsergebnissen der verschiedenen Autoren erheblich (Lit. s. TESFAMARIAM (1973), FÖRSTER, HOLLAND und TESFAMARIAM (1974)).

Diese Tatsache dürfte im wesentlichen darauf beruhen, daß die Möglichkeiten für eine Infektion des Hundes sehr verschieden sind. TESFAMARIAM stellte beispielsweise bei Kotproben von jungen Hunden in sog. Hundeläden eine Häufigkeit von 41,7 % fest, während er im Kot von Hunden auf der Straße nur in 14,6 % und von Hunden, die obduziert wurden, in 18,3 % der Fälle Salmonellen fand. Die Angaben über die festgestellten Serotypen variieren ebenfalls, aber im europäischen Bereich sind sich die Autoren darüber einig, daß der Serotyp S. typhi-murium dominiert.

Auf Grund der Untersuchungen, die die verschiedenen Autoren an Kotproben oder Darminhalt durchführten, ist erwiesen, daß klinisch völlig gesunde Hunde Salmonellen ausscheiden können. Doch gibt es auch eine Zahl von Berichten über schwere klinische, mitunter tödlich verlaufende Salmonellose-Erkrankungen des Hundes. MESSOW und HENSEL (1960) berichten über solche Fälle. Nach den Erfahrungen dieser Autoren kommt es bei der klinisch manifesten Salmonellose des Hundes vor allem zu katarrhalischer oder hämorrhagischer Enteritis. Übelkeit, Erbrechen, Bauchschmerzen, Fieber und Inappetenz sind dabei die klinischen Symptome. Bei jungen Hunden ist die septikämische Verlaufsform relativ häufig. Die Tiere sind bei dieser Form stark hinfällig und sterben in kurzer Zeit. Der pathologisch-anatomische Befund weist nach MESSOW und HENSEL (1960) keine pathognomonischen Merkmale auf; abgesehen von den enteritischen Veränderungen sind Leber, Milz und Mesenteriallymphknoten geschwollen. Petechiale Blutungen können vorkommen. Histologisch ergeben sich auch keine spezifischen Hinweise für die Salmonelleninfektion. Insbesondere stellten MESSOW und STOLL (1954) keine für Salmonellose typischen "Knötchen" in der Leber fest. Die Autoren konnten nur eine "z.T. stärkere herdförmige Aktivierung und Proliferation des RES" nachweisen. Die von POTEL (1951) ermittelten "Paratyphusknötchen" waren wahrscheinlich virusbedingt, da dieser Autor seine Untersuchungen an Hunden durchführte, die an Staupe erkrankt waren.

Die Salmonellose des Hundes ist keineswegs stets eine selbständige Krankheit. Oft tritt sie sekundär bei anderen Krankheiten auf, wobei vor allem Staupe, Hepatitis contagiosa canis und Leptospirose eine Bedeutung besitzen (MESSOW und HENSEL (1960)).

Daß die Salmonellen aber beim Hund nicht nur passager im Darm vorkommen, sondern sich im gesamten Organismus ausbreiten können, zeigen die Nachweise der Erreger in den Organen und Mesenteriallymphknoten, wie sie von PYLE (1933), REICHERDT (1936), BINDRICH (1950), POTEL (1951), STADLER (1951), MANN et al. (1965), FULTON, BLADEL und LESKO (1956), SUTMÖLLER und KAMPELMACHER (1957), MESSOW und HENSEL (1960) sowie FÖRSTER, HOLLAND und TESFAMARIAM (1974) erbracht worden sind. Von vielen Autoren (TESFAMARIAM (1973), MARRON und SENN (1974)) wird zu der Frage, ob die Hundesalmonellose die Gesundheit des Menschen gefährden kann, Stellung genommen. Allgemein wird die Frage bejaht, da der Hund oft in enger Gemeinschaft mit dem Menschen lebt. Einzelne Autoren wie TESFAMARIAM (1973) weisen besonders darauf hin, daß vor allem junge Hunde Kinder gefährden können. Eindeutige Beweise dafür, daß salmonelleninfizierte Hunde Menschen durch direkten Kontakt infiziert haben, sind jedoch bis heute sehr selten. KAUFFMANN und HENNINGSEN (1939) berichten über den Ausbruch einer Gastroenteritis bei 6 Mitgliedern einer Familie und dem im gleichen Hause befindlichen Hund. Es handelte sich um S. glostrup, die im Stuhl der Menschen und im Kot und Blut des Hundes festgestellt wurde.

Über die epidemiologische Bedeutung des Hundes für die beim Menschen vorkommende Salmonellose besteht also noch keine völlige Klarheit. Dies spricht jedoch nicht dagegen, daß auf die möglichen Gefahren, die namentlich junge zugekaufte Hunde aus Hundeläden für die Gesundheit des Menschen bedeuten können, hingewiesen werden muß.

2.3. Technik der Keimzählung

DEMETER (1967) berichtete über die direkte mikroskopische Keimzahlbestimmung nach BREED in der Milch und wies auf die Vor- und Nachteile dieser Methode hin. Er war der Ansicht, daß das mikroskopische Keimzahlverfahren ein billiges, schnelles und einfaches Verfahren ist. Zudem bot es in gewissen Grenzen die Möglichkeit, die Keimart zu bestimmen und damit die Art der Infektion zu erkennen. Die Nachteile der direkten Methode sieht DEMETER in dem sehr geringen Umfang des Untersuchungsmaterials, das dann für die Keimzählung zur Verfügung steht. Auch die individuelle Erfahrung und die mögliche physische Belastung der untersuchenden Person tragen unter Umständen zu größeren Schwankungen im Keimzahlergebnis bei. BRAUN (1959) benutzte die direkte Zählmethode neben dem indirekten kulturellen Plattenverfahren zur Keimzahlbestimmung in der Darmflora. Beide Methoden wurden in Kombination auch von DEMETER empfohlen. Für eine aussagekräftige Keimzahlbestimmung, insbesondere in der Milch oder im Wasser, sind nach DEMETER die indirekten kulturellen Keimzählmethoden die geeignetsten. An erster Stelle steht das Plattenverfahren, das als relativ zuverlässige Methode bei den verschiedensten Untersuchungsmaterialien angesehen wird. Es erfuhr im Laufe der Jahre eine Abwandlung u.a. durch BURRI (1931), CSISZAR (1935), DAMM (1935), TODOROFF (1946/47), FÖRG (1956), TERPLAN (1966), zit. nach DEMETER. Ziel dieser Modifikationen war es, die Keimzählung unter gleichzeitiger Verbesserung der Ergebnisse zu vereinfachen. Die Zählung der gewachsenen Kolonien erfolgte auf einem optimalen Agar durch automatische bzw. elektroautomatische Zählapparate, wie durch den "Numinator" (Fa. Huss, Kiel). Nach AYRES (1949) und DEMETER (1967) sind die Plattenmethode sowie ihre Modifikationen mit mehreren möglichen Fehlern behaftet. Diese Fehler beziehen sich auf die Herstellung der Verdünnungsreihen (LEMBKE und WASSERFALL (1963)), auf die Beschaffenheit des Nähragars, die Sterilisierung der Geräte (Pipetten, Petrischalen usw.) sowie auf

mögliche Auszählfehler. Auch haben die Keime die Eigenschaft, in Ketten oder Klumpen zusammenzuhängen und dadurch das Ergebnis der Keimzählung zu beeinflussen.

McCRADY (1918) stellte nach den Regeln der Wahrscheinlichkeitsrechnung Spezialtabellen auf, die erlauben, an Hand einer Schlüsselzahl = "Stichzahl" die Keimzahl zu bestimmen. Diese Methode ist als die "most probable number = MPN-Methode" bekannt. Die bei ihrer Anwendung erzielte Keimzahl wird als "höchstwahrscheinliche Keimzahl" bezeichnet. DEMETER, SAUER und MILLER (1933) benutzten u.a. die MPN-Methode bei der Coli-Titer-Bestimmung in der Milch und beschrieben ihre praktische Anwendung. Auch bei der Keimzahlbestimmung der Mikroorganismen im Wasser und in Lebensmitteln, die in mehreren Arbeiten von THATCHER und CLARK (1968) zusammenfassend dargestellt wurden, fand die MPN-Methode breite Anwendung.

AYRES (1949) verglich die MPN-Technik mit der einfachen Kultur-Methode bei der Salmonellenzählung in Trockeneiprodukten und fand eine gute Übereinstimmung beider Methoden, bevorzugte aber die MPN-Technik. Auch LEISTNER et al. (1962) bestimmten mit beiden Methoden die Salmonella-Keimzahlen in Schweinekot- und Schmutzproben. Sie hielten die mit der MPN-Methode errechneten Keimzahlen für exakter, bemängelten aber die Aufwendigkeit der Methode. UNTERMANN (1967) berichtete über den Einfluß von Verdünnungstechniken auf die Ergebnisse der Keimzahlbestimmungen in Fleisch und Fleischerzeugnissen. Er stellte wie SINELL, REUTER und UNTERMANN (1965) fest, daß für die weitere Verdünnung des Materials das DEMETER-Verfahren günstigere Ergebnisse zeitigt als das Röhrchenverfahren, jedoch mit einigen Nachteilen behaftet ist. Die größere Fehlerbreite des Röhrchenverfahrens sieht UNTERMANN (1967, 1970) in der Pipettiertechnik und in Fehlern der Pipetten (LORENZ (1962)). Diese kann seiner Ansicht nach durch Sorgfalt der Untersuchungsperson am niedrigsten gehalten werden. Die gleiche Ansicht vertritt UNTERMANN (1970) bei einer Gegenüberstellung

der Tropfenbeimpfungstechnik mit dem Spatel-Beimpfungsverfahren für kulturelle Keimzahlbestimmungen. Er fand keinen relevanten Unterschied zwischen beiden Methoden.

2.4. Lebensdauer der Salmonellen in verschiedenen Medien und bei verschiedenen Temperaturen

Von Interesse waren für die vorliegende Arbeit Untersuchungen, die über die Lebensdauer der Salmonellen in kotähnlichen Medien und Lebensmitteln bei unterschiedlichen Aufbewahrungstemperaturen durchgeführt wurden.

Bekannt ist, daß die Salmonellen gegenüber äußeren Einflüssen sehr widerstandsfähig sind und die biologische Abwasserreinigung überleben (STRAUCH (1972)).

BEST, MÜLLER und STRAUCH (1971) prüften das Verhalten von S. dublin, typhi-murium, paratyphi-B, anatum und manchester in natürlich gelagerter Rindergülle, Rinderjauche und Kälbergülle während verschiedener Jahreszeiten. Durchweg überlebten die Salmonellen in Rindergülle 154, Rinderjauche 67 und Kälbergülle 24 Tage. Die Überlebensfähigkeit in Gülle war nicht temperaturabhängig, war aber bei den einzelnen Species unterschiedlich. Nach STRAUCH (1972) bleiben Salmonellen bei $+8^{\circ}$ C im Schwemmist erheblich länger am Leben als bei $+17^{\circ}$ C. PIENING (1939) untersuchte Kotproben von Rindern, die Dauerausscheider von S. dublin und typhi-murium waren, nach 1 - 6tägiger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur, im Kühlschrank und bei -8° bis -10° C. Während der 6tägigen Aufbewahrung im gefrorenen Zustand starben die Salmonellen ab. Fand die Aufbewahrung im Kühlschrank statt, zeigte sich ein vermindertes Wachstum.

JOHNE (1961) stellte fest, daß sich S. typhi-murium, dublin und abortus-equi in Verdauungsbrühe, in Milch oder im Eidotter bei Aufbewahrung bei $+5^{\circ}$ C nicht vermehrten.

HENNINGER (1934) infizierte Schweine- und Kälberlebern mit S. dublin, typhi-murium und paratyphi-B und bewahrte die Lebern dann bei 0° bis -4° C oder bei -8° bis -10° C auf. Im ersten Fall konnten die Salmonellen noch bis zu 4 Monaten, im zweiten Fall bis zu 15 Monaten nachgewiesen werden. Die Salmonellenzahl reduzierte sich während der Aufbewahrungszeiten. Bei S. typhi-murium war die Keimzahlverringerung am geringsten ausgeprägt.

WINKLE und ADAM (1959) führten an verschiedenen Grundstoffen für die Margarineproduktion Untersuchungen über die Lebensdauer der Salmonellen durch. Die Grundstoffe wurden mit bestimmten Keimzahlen von S. typhi-murium, paratyphi-B und gallinarum-pullorum infiziert und danach bei Zimmertemperatur aufbewahrt. In gesäuerter Magermilch waren die Salmonellen am 4. Tag nicht mehr nachzuweisen. In pasteurisierter Eigelblösung konnten S. typhi-murium und paratyphi-B am 7. bzw. 9. Tag nicht mehr festgestellt werden.

PARK, MARTH und OLSEN (1970) infizierten pasteurisierte Milch mit bestimmten Zahlen von S. typhi-murium, um die Milch dann zu Käse zu verarbeiten. Mit der MPN-Technik verfolgten sie die Salmonella-Keimzahlen während der Käseherstellung, -aufbewahrung und -reifung bei $+13^{\circ}$ C. Bei der Käseherstellung kam es zu einer Vermehrung, bei der Reifung hingegen zu einer Verminderung der Salmonellen. Bei Lagerung des Käses bei $+13^{\circ}$ C blieben die Salmonellen 7 und bei $+7^{\circ}$ C 10 Monate am Leben. Bei anderen Käsesorten blieb die Vermehrungsphase am Anfang aus.

In einer zweiten Arbeit prüften PARK et al. (1970) das Verhalten der Salmonella-Keimzahlen in 14 Partien kaltverpacktem Käse, der bei $+4,4^{\circ}$ und $+12,8^{\circ}$ C gelagert wurde. Die verschiedenen Käsepartien erhielten Zusätze von Kaliumsorbat, Natriumpropionat, Milch oder Essigsäure. Salmonellen konnten nach 3wöchiger Aufbewahrung bei $+12,8^{\circ}$ C nicht mehr isoliert werden. Wurden die Käse bei $+4,4^{\circ}$ C gelagert, waren

die Salmonellen nach 5 Wochen nicht mehr nachweisbar. Bei Fortlassen der Zusätze verlängerte sich die Überlebenszeit.

SIEMS et al. (1975) untersuchten auf dem deutschen Markt angebotenes Schlachtgeflügel. Das Geflügel war im Höchstfall 4 Wochen bei -22° C aufbewahrt worden. Die Autoren stellten bei 51,4 % des Geflügels im Auftauwasser oder in den Innereien Salmonellen fest.

Nach den bisher zitierten Arbeiten ist wahrscheinlich die Lebensdauer der Salmonellen im Kot kürzer als in Lebensmitteln. Die Temperatur, die auf den Kot einwirkt, hat weiterhin einen Einfluß auf die Überlebenszeit. Bei Rinderjauche spricht STRAUCH (1972) von einem Entseuchungseffekt. Er führt diesen auf das Vorhandensein von "nicht näher definierten biochemischen Faktoren zurück, die offenbar eine für pathogene Keime antagonistische Wirkung" entfalten. In Lebensmitteln, die ein günstigeres Medium für Salmonellen sind, bleiben diese Keime auch nach Aufbewahrung bei niedrigen Temperaturen lange Zeit lebensfähig.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. ERSTER ABSCHNITT

3.1.1. Material

Im ersten Abschnitt der Arbeit wurden 312 Hundekotproben auf das Vorkommen von Salmonellen geprüft.

130 Kotproben wurden von 2 - 6 Wochen alten Hunden entnommen, die sich in Verkaufsläden von 4 West-Berliner Stadtbezirken befanden. Verkauf und Zugang der Hunde erfolgten in den Läden kontinuierlich, wobei die Hunde aus verschiedenen Ländern (Dänemark, DDR, Bundesrepublik Deutschland u.a.) zugeliefert wurden. Ohne Rücksicht auf das Herkunftsland wurden die Hunde zu 5 - 6 Tieren in 1,5 x 2,0 m großen, mitunter auch kleineren Holzboxen, deren Fußböden aus Holz gefertigt und mit Holzwolle oder Holzspänen beschickt waren, bis zum Verkauf gehalten. Eine Übertragung von Salmonellen von Tier zu Tier war also zu jeder Zeit möglich.

Die Bereitschaft der Ladeninhaber, die Entnahme von Kotproben zu unterstützen, war erwartungsgemäß gering, weil die Ladeninhaber bei einem Salmonellennachweis nachteilige Konsequenzen für ihren Handel befürchteten.

105 Kotproben wurden von Hunden auf den Straßen West-Berlins gesammelt. Es handelte sich in jedem Fall um frisch abgesetzten Kot, der stets nur an einer Stelle in verschiedenen Straßen entnommen wurde.

77 Kotproben wurden von Hunden unter tierärztlicher Kontrolle in der tierärztlichen Praxis entnommen. Auf Grund zuweilen vorhandener gastro-enteritischer Symptome war bei einigen Hunden ein unbestimmter Verdacht auf eine Salmonellose gegeben.

Zu den Versuchen im zweiten Abschnitt wurden 10 Hundekotproben benutzt, die an Straßenrändern gesammelt worden waren.

3.1.2. Methoden

3.1.2.1. Bakteriologische Untersuchung der Kotproben auf Salmonellen; qualitativer Nachweis

Die Kotproben wurden in sterilen Petrischalen aus Kunststoff ins Laboratorium verbracht und entweder sofort oder nach 24stündiger Aufbewahrung im Kühlschrank (+5° C) bakteriologisch untersucht. Von jeder Probe wurde für eine eventuelle spätere Keimzahlbestimmung etwa die Hälfte zurückgehalten und bei -22° C eingefroren.

Die Technik der bakteriologischen Untersuchung entsprach der von TESFAMARIAM (1973). Da über die optimalen Temperaturen für die Bebrütung der Anreicherungsmedien keine einheitliche Auffassung unter den Autoren besteht, wurde ausschließlich die Temperatur von 37° C zur Bebrütung benutzt.

In 50 ml Trypton-Soja-Brühe (TSB) (Oxoid Best.-Nr. L 42) wurden je Probe 2 - 3 g Kot eingebracht. Dann erfolgte eine Homogenisierung des Kotes mit dem Stabhomogenisator (Typ: Atomixmill) und eine 2 - 3stündige Aufbewahrung bei Zimmertemperatur (22° - 25° C) zur Aktivierung des Salmonellenwachstums. Nach kurzer nochmaliger Durchmischung wurden mit steriler Pipette 3 ml entnommen und auf 10 ml Tetrathionatbrühe (Tet.) nach Müller-Kauffmann (Merck Art. Nr. 5172) übertragen und gut durchmischt. Die beimpfte Anreicherungsbrühe wurde 42 Std. bei 37° C bebrütet. Danach wurde nach kurzem Schütteln 0,1 ml entnommen und mittels sterilem Drigalskispatel auf einer Brillantgrün-Phenolrot-Laktose-Agarplatte (BPLA) gut verteilt. Nach 24stündiger Bebrütung bei 37° C wurden die gewachsenen Kolonien beurteilt. Waren diese nach Morphologie und Farbumschlägen salmonellenverdächtig,

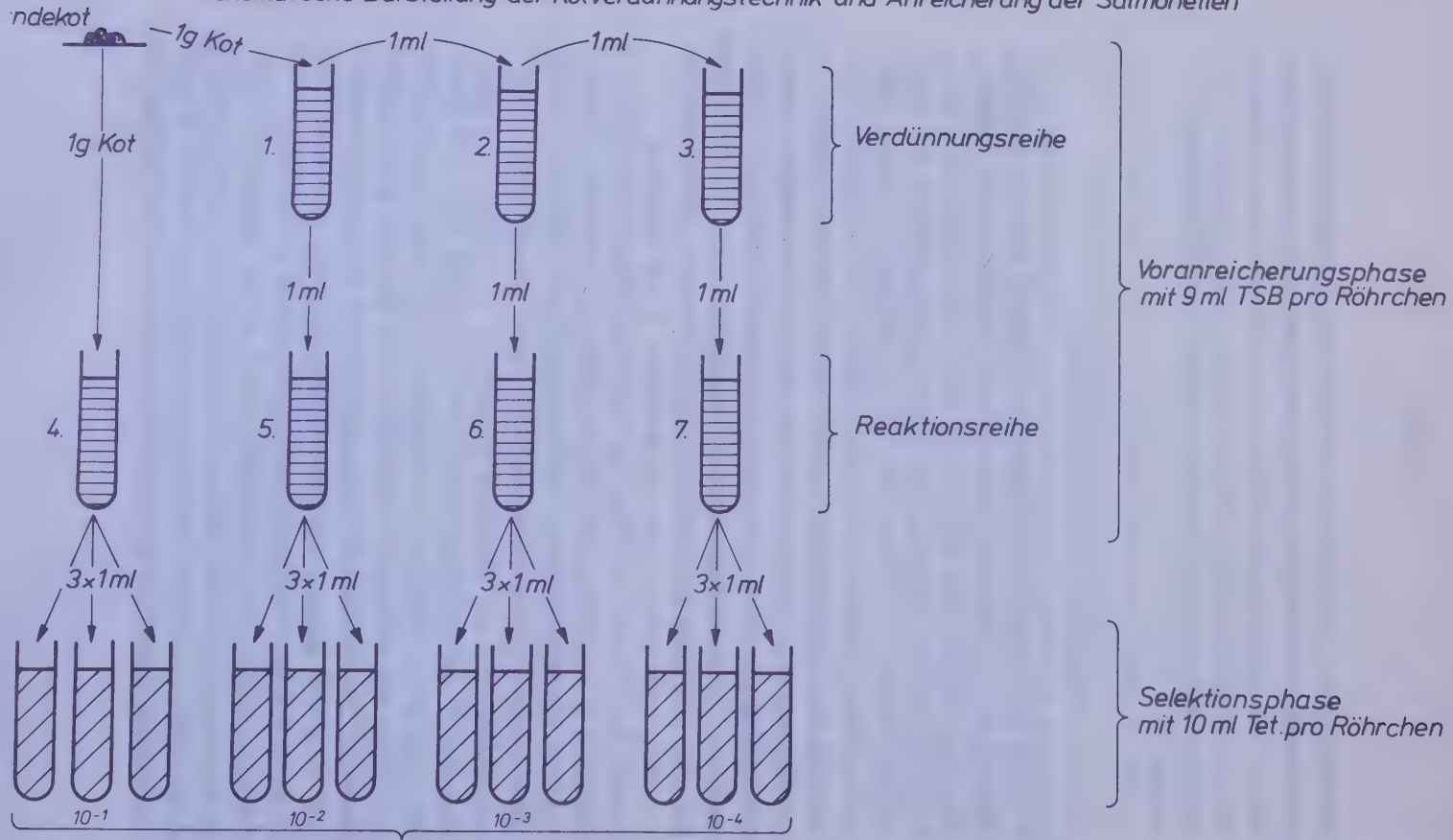
wurden sie mit den polyvalenten Salmonella-Seren I und II der Behringwerke mittels der Objektträgeragglutination geprüft. Bei positivem Ergebnis wurden Reinkulturen gewonnen, die zur serologischen Differenzierung an das Robert von Ostertag-Institut des Bundesgesundheitsamtes eingesandt wurden.

3.1.2.2. Salmonella-Keimzahlbestimmung

Für die Bestimmung der Salmonella-Keimzahl wurde die MPN-Technik bei 32 salmonella-positiven Hundekotproben verwendet. Zur Herstellung der Verdünnungen wurde das Aktivierungsmedium TSB benutzt. Die Proben waren während der Vorprüfung stets 4 - 5 Tage bei -22° C aufbewahrt worden und mußten daher zunächst aufgetaut werden. Die angewandte MPN-Technik ist in Abbildung 1 dargestellt. Zunächst wurden 7 Röhrchen (1. - 7.) mit je 9 ml TSB in einer ersten Reihe mit 3 Röhrchen (1. - 3.) und einer zweiten Reihe mit 4 Röhrchen (4. - 7.) (= Reaktionsreihe) aufgestellt. 1 g Kot wurde auf das Röhrchen 1 gegeben und homogenisiert (Verdünnung = 1 : 10). Dann wurde 1 ml aus Röhrchen 1 auf Röhrchen 2 (Verd. = 1 : 100) und 1 ml aus Röhrchen 2 auf Röhrchen 3 (Verd. = 1 : 1000) übertragen. In Röhrchen 4 wurde gleichfalls 1 g Kot eingegeben und homogenisiert (Verd. = 1 : 10). Zur Fortsetzung der Verdünnung in der 2. Reihe wurde 1 ml aus Röhrchen 1 auf Röhrchen 5 (Verd. = 1 : 100), 1 ml aus Röhrchen 2 auf Röhrchen 6 (Verd. = 1 : 1000) und 1 ml aus Röhrchen 3 auf Röhrchen 7 (Verd. = 1 : 10 000) pipettiert. Bei jedem Verdünnungsvorgang wurde die Pipette gewechselt. Nach ca. 2 - 3stündiger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur (22° - 25° C) wurden 3 x 1 ml TSB-Kultur von Röhrchen 4, 5, 6 und 7 auf je 3 Röhrchen, die je Röhrchen 10 ml Tet.-Bouillon enthielten, überpipettiert, so daß insgesamt 12 Tet.-Bouillon-Röhrchen zur Verfügung standen (= Selektionsreihe). Nach 18 - 24stündiger Bebrütung bei 37° C und vorherigem Schütteln wurde aus jedem Röhrchen der Selektions-

ABBILDUNG 1

Schematische Darstellung der Kotverdünnungstechnik und Anreicherung der Salmonellen



reihe 0,1 ml Kultur entnommen und auf eine BPLA-Platte übertragen. Die Beurteilung und Zählung der auf den Platten nach 24stündiger Bebrütung gewachsenen Kolonien erfolgte in der üblichen Weise. Es wurde somit stets das Vorhandensein von Salmonellen in 0,1 - 0,01 - 0,001 und 0,0001 g Kot kontrolliert. Die Ermittlung der Keimzahl erfolgte nach den Tabellen von McCRADY (s. bei DEMETER (1933 und 1967)) auf folgende Weise: Zunächst wurde festgestellt, bis zu welcher Verdünnung auf den BPLA-Platten noch Salmonella-Kolonien gewachsen waren. Aus den salmonella-positiven und salmonella-negativen Röhrchen ergibt sich die sog. "Stichzahl" (significant number), mit deren Hilfe aus der McCRADY'schen Tabelle die "höchstwahrscheinliche Keimzahl" (most probable number) abzulesen ist.

Beispiel:

Verdünnungsstufen	BPLA-Platten	Zahl der positiven Platten
0,1 g Kot/ml	+ + +	3
0.01 " "	+ + -	2
0,001 " "	+ - -	1
0,0001 " "	- - -	0

\+ = salmonella-positiv
\- = salmonella-negativ

Aus dem obigen Beispiel ergibt sich die "Stichzahl" 3210, d.h. alle Röhrchen mit 0,1 g Material waren noch salmonella-positiv, dagegen enthielten nur noch 2 Röhrchen mit 0,01 g und 1 Röhrchen mit 0,001 g Material Salmonellen. Für die Berechnung der "höchstwahrscheinlichen Keimzahl" wird die Verdünnungsstufe zugrunde gelegt, bei der noch alle 3 Röhrchen Salmonellen enthielten. Ist keine der Verdünnungsstufen in allen 3 Röhrchen positiv, so ergibt sich eine entsprechend niedrigere "Stichzahl", z.B. 221 aus 2210 oder 210 aus 2100.

Im oben erwähnten Beispiel würde die "höchstwahrscheinliche Keimzahl" bei einer "Stichzahl" von 321 nach den McCRADY'schen Tabellen 150 Salmonellen je 1 g Kot betragen.

3.2. UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE (ERSTER ABSCHNITT)

3.2.1. Salmonella-Nachweis bei 312 Hundekotproben

Es wurden 32mal (= 10,25 %) Salmonellen in den 312 Hundekotproben ermittelt. Die Salmonella-Nachweise verteilen sich auf die einzelnen Hundegruppen wie folgt (s. Tab. 1):

Tab. 1: Salmonella-Nachweis in 3 Hundegruppen

Gruppe	Sammelstelle	Zahl der untersuchten Hunde	Anzahl positiv	% positiv
1	Hundeladen	130	16	12,3
2	Straßenhunde	105	9	8,57
3	Tierarztpraxis	77	7	9,9
insgesamt		312	32	10,25

Die Salmonella-Typen sind aus Tabelle 2 zu ersehen.

Tab. 2: Salmonella-Serotypen in 32 salmonella-positiven Hundekotproben

Serotyp	Zahl der Serotypen in:		
	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3
S. typhi-murium	11	7	3
S. newport	1	-	1
S. infantis	2	-	2
S. panama	2	-	-
S. brandenburg	-	2	1
insgesamt	16	9	7

Salmonella typhi-murium war bei allen 3 Hundegruppen vorherrschend. Außer dieser Species wurden noch S. newport, infantis, panama und brandenburg festgestellt. Am häufigsten waren Salmonellen im Kot von Hunden aus Hundeläden enthalten. Die Salmonellenhäufigkeit bei Straßenhunden und Hunden in tierärztlicher Praxis war etwa gleich. Hieraus ist zu schließen, daß die Hunde aus tierärztlicher Praxis nicht besonders stark mit Salmonellen infiziert waren.

3.2.2. Salmonella-MPN-Keimzahlen in den 32 salmonella-positiven Hundekotproben

Aus Tabelle 3 sind die je 1 g Hundekot festgestellten Salmonella-MPN-Keimzahlen und deren Verteilung auf die verschiedenen Salmonella-Species und die 3 Tiergruppen ersichtlich:

Tab. 3: Ermittelte Salmonella-Keimzahlen in 1 g Kot mittels MPN nach McCRADY

Salmonella-Serotypen	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3
S. typhi-murium	15 150 110 150 115 45 300 29 34 120 210	15 00 200 25 200 65 00	40 95 07
S. newport	27		00
S. infantis	140 160		110 120
S. panama	29 44		
S. brandenburg		160 110	15

00 = Salmonellen nur bei der Voruntersuchung nachgewiesen

Der arithmetische Mittelwert sämtlicher quantitativ erfaßter Proben (n = 32) liegt bei 80 Keimen/1 g Kot.

In 3 Fällen konnten trotz der Voranreicherungstechnik bei der MPN-Keimzahlbestimmung die bei der Voruntersuchung ermittelten salmonella-positiven Befunde nicht bestätigt werden. Wahrscheinlich handelte es sich um sehr geringe Salmonella-Keimzahlen in den betreffenden Kotproben.

Bei den 29 Hundekotproben, bei denen mit der MPN-Methode eine Salmonella-Keimzahlbestimmung möglich war, betrug das Keimzahlmaximum 300 (= 3 x 10^2) Salmonellen/1 g Kot, das Keimzahlminimum 7 Salmonellen/1 g Kot. In diesen Keimzahlen ergaben sich bei den verschiedenen Serotypen keine Unterschiede.

3.3. ZWEITER ABSCHNITT

3.3.1. Material

Die im ersten Abschnitt ermittelten Salmonella-Keimzahlen geben die höchstwahrscheinliche Keimzahl in 1 g Kot natürlich infizierter Hunde zum Zeitpunkt der Kotuntersuchung an. Da die Keimzählung bei 32 salmonella-positiven Proben erst nach 4 - 5tägiger Aufbewahrung bei -22° C erfolgte (Verzögerung durch das Abwarten des Ergebnisses der Voruntersuchung), stellte sich die Frage, ob die Keimzahlen durch die Aufbewahrung der Kotproben bei -22° C reduziert worden sein konnten. Für die zur Klärung dieser Frage erforderlichen Versuche wurden Hundekotproben verwendet, die in größerer Menge als frisch abgesetzter Kot an Straßenrändern gesammelt worden waren.

Zur Vermeidung von Zeitverlusten wurde bei diesen Kotproben auf eine Voruntersuchung auf Salmonellen verzichtet.

3.3.2. Methoden

5 Kotproben blieben ohne Sterilisation, 5 Kotproben wurden 15 Minuten im Autoklaven bei 1,5 Atü sterilisiert. Von jeder Kotprobe wurden 5 g entnommen, in 45 ml sterile NaCl-Lösung eingebracht und mit dem Stabhomogenisator homogenisiert, so daß eine gleichmäßige Kotsuspension (= Ausgangssuspension) entstand. Zu dieser Suspension wurden 0,5 ml einer 24stündigen Bouillonkultur von S. typhi-murium (isoliert aus Hundekot) gegeben. Nach sorgfältiger Durchmischung wurde eine Verdünnungsreihe von 10^{-2} bis 10^{-6} hergestellt, wobei 0,5 ml der künstlich infizierten Ausgangssuspension zu 4,5 ml physiologischer NaCl-Lösung gegeben und von dieser Verdünnung die weiteren Verdünnungsstufen hergestellt wurden. Unmittelbar danach wurde von jeder Verdünnungsstufe je 1 ml auf 3 Parallelröhrchen mit je 10 ml Tet.-Bouillon überimpft und in der gleichen Weise wie im ersten Abschnitt die höchstwahrscheinliche Keimzahl mit der MPN-Methode ermittelt. Die Ausgangssuspension wurde während der Dauer des Versuches bei -22° C aufbewahrt, im Abstand von 48 Std. zwecks erneuter Keimzahlbestimmung aufgetaut und nach der Entnahme von 0,5 ml zur Herstellung der Verdünnungsreihen wieder eingefroren.

3.4. UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE (ZWEITER ABSCHNITT)

Die Ergebnisse der Keimzählungen bei den nicht sterilisierten und sterilisierten Kotproben sind in den Tabellen 4 und 5 dargestellt.

Tab. 4: Salmonella-Keimzahlen/1 g Kot in 5 nicht sterilisierten Hundekotproben nach verschieden langer Aufbewahrung bei -22° C

Kotproben-Nr.	Keimzahlen/ 1 g Kot in Probe					
	1	2	3	4	5	
U.tag[a]						Ø d.Log.[b]
1.	$3x10^6$	$9x10^6$	$9x10^6$	$4x10^5$	$3x10^5$	6,29
3.	$8x10^3$	$5x10^4$	$3x10^5$	$3x10^4$	$3x10^4$	4,61
5.	$8x10^2$	$3x10^4$	$3x10^2$	$3x10^2$	$3x10^2$	2,96
7.	$6x10^2$	$3x10^3$	$6x10^1$	$18x10^1$	$22x10^1$	2,53
9.	$8x10^1$	$3x10^2$	0,0	$12x10^1$	$8x10^1$	1,67
11.	0,0	$18x10^1$		0,0	0,0	0,45
13.		$6x10^1$				0,35
15.		0,0				0,0

[a] U.tag = Tag der Untersuchung nach entsprechend langer Lagerung;
1. = Tag der künstlichen Infektion

[b] Ø d. Log. = Durchschnitt der Logarithmen der Keimzahlen

Bei allen 5 Hundekotproben kam es zu einer Keimzahlreduktion. Die Keimzahlreduktion verstärkte sich mit längerer Aufbewahrungsdauer bei -22° C. Die Verringerung der Keimzahlen bei den einzelnen Kotproben war unterschiedlich und abhängig von der Ausgangskeimzahl. Vom 11. Tag der Lagerung an konnten Salmonellen nur noch in einer der 5 Kotproben nachgewiesen werden. Am 15. Tag waren alle Proben salmonella-negativ.

Tab. 5: Salmonella-Keimzahlen/1 g Kot in 5 sterilisierten Hundekotproben nach verschieden langer Aufbewahrung bei -22° C

Kotproben Nr.	Keimzahlen/1 g Kot in Probe					
	1	2	3	4	5	
U.tag[a]						Ø d.Log.[b]
1.	$3x10^6$	$9x10^6$	$9x10^7$	$9x10^5$	$4x10^5$	6,59
3.	$3x10^4$	$9x10^5$	$9x10^5$	$9x10^3$	$4x10^4$	4,99
5.	$3x10^3$	$19x10^3$	$9x10^4$	$9x10^3$	$4x10^3$	4,1
7.	$3x10^3$	$4x10^3$	$4x10^5$	$4x10^3$	$3x10^2$	3,75
9.	$3x10^3$	$5x10^2$	$7x10^3$	$15x10^2$	$12x10^1$	3,1
11.	$22x10^1$	$3x10^2$	$4x10^2$	$3x10^2$	o,o	1,98
13.	$6x10^1$	$8x10^1$	$22x10^1$	$8x10^1$		1,58
15.	o,o	$3x10^1$	$14x10^1$	o,o		o,75
17.		o,o	$6x10^1$			o,26
19.						

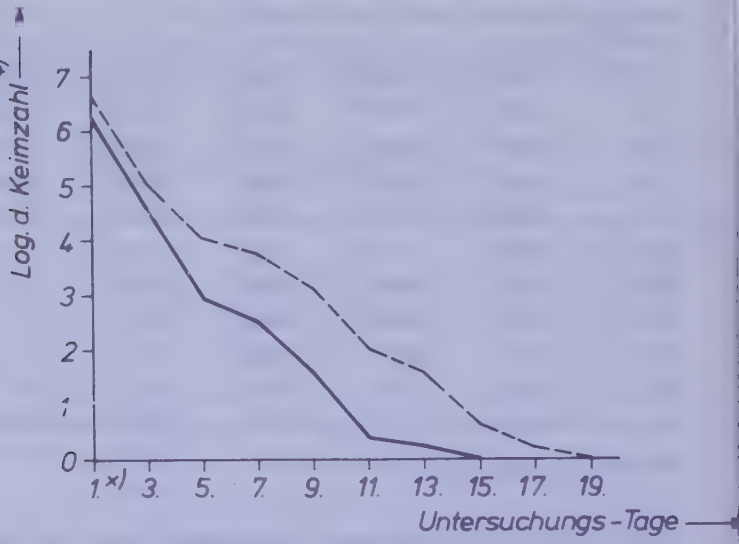
a), b) vgl. Tabelle 4

Auch in den sterilisierten 5 Hundekotproben kam es zu einer Salmonella-Keimzahlverringerung. Diese ging jedoch etwas langsamer vor sich als bei den nicht sterilisierten Proben (s. Tab. 4). In der Kotprobe 5 ließen sich ab 11. Tag, in den Proben 1 und 4 ab 13. Tag, in der Probe 2 ab 15. Tag und in der Probe 3 ab 17. Tag Salmonellen nicht mehr nachweisen.

Um die in den Tabellen 4 und 5 aufgeführten Zahlen besser vergleichen zu können, wurden für die verschiedenen Untersuchungstage die Mittelwerte der Logarithmen der jeweils 5 Proben (nach der Berechnungsart von BRAUN et al. (1966)) ermittelt. Die Mittelwerte der Logarithmen sind in Abbildung 2 auf der Ordinate, die Untersuchungstage auf der Abszisse dargestellt.

ABBILDUNG 2

Vergleiche der Keimzahlreduktion in sterilisierten und nicht sterilisierten Hundkotproben



---- Sterilisierte Kotprobe

—— Nichtsterilisierte Kotprobe

x) Ausgangskeimzahl vor Lagerung bei -22°C

+) Mittelwerte aus je 5 Proben

4. DISKUSSION

Der quantitativen Untersuchung der Hundekotproben im ersten Abschnitt auf Salmonellenzahlen pro Gramm Kot ist eine qualitative Untersuchung der Proben vorausgegangen. Dies war erforderlich, da die Hunde sowie ihre Besitzer nicht bekannt waren und ein klinischer Hinweis auf eine Salmonella-Infektion bei den Hunden fehlte.

Mit der Salmonella-Nachweismethode im Hundekot, wie sie von TESFAMARIAM (1973) angewandt wurde, ausgenommen die Verwendung der Selenitbrühe und Bebrütung bei 43° C, konnten in 32 von 312 Hundekotproben (= 10,25 %) Salmonellen nachgewiesen werden. Zu einem gleichen Prozentsatz von positiven Hundekotproben kamen KOOPMANN und JANSSEN (1972) bei Untersuchung von 153 Hunden. In Tabelle 1 fällt auf, daß der Anteil der positiven Befunde bei Hunden aus Hundeläden erheblich höher liegt als bei Straßenhunden oder bei Hunden aus tierärztlichen Praxen. Ferner fiel auf, daß S. typhi-murium bei zwei Drittel der positiven Proben allein vertreten war, wobei mehr als die Hälfte auf die Gruppe der Hunde aus Hundeläden fiel.

Die Salmonella-Keimzahlbestimmung in 1 g der positiv ermittelten Hundekotproben erfolgte mit der MPN-Technik. Die in Vorversuchen angewandte Direktausstrichverfahrensmethode zur Salmonellenzählung erwies sich beim Hundekot als unbrauchbar.

Die Anwendung der MPN-Technik zur Salmonella-Keimzählung geschah analog dem Vorgehen anderer Autoren (AYRES (1949), TAYLOR, SILLIKER und ANDREWS (1958), LEISTNER et al. (1962), PARK et al. (1970)). LEISTNER et al. stellten mit diesem Verfahren bei 5 Schweinekotproben 2, 5, 11, 14 und 3490 Sal-

monellen je 1 g Kot fest. Bei der Untersuchung von 5 Schmutzproben erzielten sie Keimzahlen von 18, 78, 450, 2170 und 22.000 Keimen in 1 g Schmutz.

Die bei den eigenen Untersuchungen ermittelten Salmonella-Keimzahlen von 10^3 je 1 g Hundekot stehen im Einklang mit den Ergebnissen der Salmonella-Keimzahlen in Schweinekotproben von LEISTNER et al., sofern man von der einen Höchstzahl von 3490 Keimen pro Gramm Kot absieht. Die im Hundekot relativ geringen Salmonella-Zahlen finden wahrscheinlich in der Tatsache eine Begründung, daß die Hunde eher Salmonellenausscheider als an Salmonellose klinisch erkrankt waren, da in der Regel eine höhere Keimdichte für das Hervorrufen einer Infektion zu erwarten ist. Es ist aber auch nicht auszuschließen, daß möglicherweise die 4tägige Aufbewahrung bei -22° C und das wiederholte Auftauen bei geringen Salmonella-Keimzahlen nicht nur eine Keimzahlreduktion bewirkten, sondern auch zu einem geringen Teil zu einem Absterben der Salmonellen führten, wie es an 3 Kotproben festzustellen war. In dieser Hinsicht kann auf die Untersuchungsergebnisse von PIENING (1939) verwiesen werden, der in natürlich infizierten Rinderkotproben nach 6tägiger Aufbewahrung des Kotes bei -8° bis -10° C ein Absterben der Salmonellen beobachtete.

Bei der eigenen Untersuchung im zweiten Abschnitt konnte bei künstlich infizierten, sterilisierten und nicht sterilisierten Hundekotproben bei der Aufbewahrung bei -22°C die Salmonella-Keimzahlreduktion verfolgt werden. Dabei wurde festgestellt, daß sich die Salmonellenzahlen in den nicht sterilisierten Kotproben etwas schneller als bei den sterilisierten verringerten. Die Ursachen hierfür mögen bei den nicht sterilisierten Kotproben zum Teil das Wachstum der Begleitbakterien sowie eine pH-Verschiebung der Anreicherungsbrühe sein (LEISTNER u.a.). Da die Keimzahl sich auch in den sterilisierten Kotproben - wenn auch langsamer - verringerte, sind andere Ursachen für eine Schädigung der Keime anzunehmen, wobei das wiederholte Einfrieren und Auftauen auch hier eine Rolle gespielt haben dürften.

Das immerhin bei 29 Proben übereinstimmende niedrige Salmonellenzahlergebnis kann als Beweis dafür gelten, daß im Falle eines salmonella-positiven Ergebnisses in Kotproben von Hunden, die als Salmonellenausscheider anzusehen sind, nur relativ geringe Salmonella-Zahlen enthalten sein dürften. Dabei ist möglich, daß die Häufigkeit des Vorkommens und die Schwankungen in den Keimzahlen von der Eigenart der Stämme und den Abwehrreaktionen des Hundes beeinflußt werden. Bei den Salmonellenzahlen der einzelnen Serotypen waren Unterschiede nicht erkennbar. Die Salmonellose des Hundes dürfte in Anbetracht des engen Kontaktes zwischen Mensch und Hund ein ernstzunehmendes Problem sein. Insbesondere können Kinder, deren Spielgefährte der Hund oft ist, gefährdet sein, zumal Kinder im Umgang mit Hunden nicht vorsichtig sind. Allgemeinhygienische Aufklärungsmaßnahmen der Hundehalter, wie das Fernhalten der Hunde von Kinderspielplätzen, Vermeidung von unnötiger Berührung und Abrichtung der Hunde, daß sie den Kot möglichst nicht auf öffentlichen Gehwegen absetzen, könnten die gesundheitlichen Gefahren für den Menschen verringern. Möglich ist, daß auch der auf den Straßen abgesetzte Hundekot zu einer Salmonelleninfektion des Abwassers beiträgt.

Die für den Verkauf von Hunden in den sog. "Hundeläden" verantwortlichen Personen sollten angehalten werden, hygienische Maßnahmen in ihren Betrieben durchzuführen, die geeignet sind, die Einschleppung und Verbreitung von Salmonellen zu verhindern. Dabei sind besonders wichtig:

1. Absonderung neuhinzugekommener Hunde bis nach wiederholter bakteriologischer Untersuchung von Kotproben sichergestellt ist, daß die Tiere keine Salmonellen ausscheiden.
2. Haltung der Verkaufshunde in gut eingerichteten und leicht desinfizierbaren Gehegen und Hütten.
3. Regelmäßige Desinfektion der Unterkünfte der Hunde und möglichst unter Anwendung des "Rein-Raus-Prinzips".

5. ZUSAMMENFASSUNG

Von 312 in Hundeläden, auf Straßen und in tierärztlichen Praxen gesammelten Hundekotproben enthielten 32 (= 10,25 %) Salmonellen, die 5 verschiedenen Species angehörten. Etwa zwei Drittel der isolierten Salmonellen gehörten zum Serotyp S. typhi-murium.

Mit Hilfe der MPN-Technik wurde nach 4 - 5tägiger Lagerung bei -22° C die Salmonella-Keimzahl dieser 32 salmonella-positiven Proben ermittelt.

In 29 Kotproben wurden zwischen 7 und 300 Salmonellen (Mittelwert = 80/g) je 1 g Kot festgestellt. Bei 3 Proben konnten nach 4tägiger Aufbewahrung bei -22° C keine Salmonellen mehr nachgewiesen werden. Die jeweils ermittelte Salmonellenzahl war vom Serotyp unabhängig.

In nicht sterilisierten und in nach Sterilisation bei 1,5 Atü über 15 Minuten mit S. typhi-murium künstlich infizierten Hundekotproben reduzierte sich die Zahl der Salmonellen mit der Dauer der Aufbewahrung bei -22° C. Bei Ausgangskeimzahlen von jeweils etwa 10^5 bis 10^6 Salmonella-Keimen waren bei den nicht sterilisierten Proben nach dem 15., bei den sterilisierten Proben nach dem 19. Tag keine Salmonellen mehr nachzu-

Die schon bei 4 - 5tägiger Aufbewahrung bei -22° C mögliche Keimzahlverringerung zeigt, daß eventuell durch die Lagerung der natürlich infizierten Hundekotproben ein Keimzahlabfall eingetreten ist und daß die in den oben genannten 29 Kotproben ermittelten Keimzahlen pro 1 g Kot unmittelbar nach der Defäkation etwas höher gelegen haben können.

6. SUMMARY

A total of 312 dog faeces from pet shops, streets, and veterinary practices was examined for the presence of Salmonella. In 32 cases (10.25 %), Salmonella of 5 serotypes were isolated. About 2/3 serotypes belonged to Salmonella typhi-murium.

The most probable number-technique was used to enumerate salmonellae in positive faecal samples after 4 - 5 days of storage at -22 C. Between 7 and 300 Salmonella cells/g (mean = 80/g) were detected in 29 cases. In 3 samples no salmonellae could be recovered after 4 days of storage at -22 C. The number of salmonellae was not correlated with the particular serotype.

With Salmonella typhi-murium artificially inoculated into non-sterilized, and sterilized samples of dog faeces, the number of salmonellae was reduced during the period of storage at -22 C. For the initial inoculum of about 10^5 to 10^6 bacteria/g no salmonellae could be identified in the non-sterilized samples after 15, and in the sterilized samples after 19 days.

The possible reduction in bacterial count, which occurred after 4 to 5 days of storage at -22 C, may be due to storage of naturally infected samples. Moreover, bacterial count as determined in 29 cases could have been slightly higher if samples were collected immediately after excretion.

7. LITERATURVERZEICHNIS

AYRES, J.C. (1949)

A procedure for the quantitative estimation of Salmonella in dried egg products

Food Technol. 3, 172-176

BEST, E., W. MÜLLER u. D. STRAUCH (1971)

Untersuchungen über die Tenazität von Krankheitserregern in tierischen Fäkalien

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 84, 184-188

BINDRICH, H. (1950)

Beobachtung bei Staupe-Virus-Passagen an Hunden

Exper. Vet. Med. 1, 68-81

BRAUN, O.H. (1959)

Zur Methodik der quantitativen Analyse der Darmflora

Zbl. Bakt. I. Orig. 174, 390-401

BRAUN, O.H., J. DEHNERT, H. HAENEL, K. HOFFMANN, M. KIENITZ, J.B. MAYER, H. REPLOH, G. REUTER, H.P.R. SEELIGER u. H. WERNER (1966)

Methoden der bakteriologischen Stuhluntersuchung

Zbl. Bakt. I. Orig. 200, 405-416

DEMETER, K.J. (1967)

Bakteriologische Untersuchungsmethoden der Milchwirtschaft

Ulmer, Stuttgart

DEMETER, K.J., F. SAUER u. M. MILLER (1933)

Vergleichende Untersuchungen über verschiedene Methoden zur Coli-aerogenes-Titerbestimmung in Milch

Milchwirtschaftl. Forsch. 15, 265-280

FÖRSTER, D., U. HOLLAND u. H. TESFAMARIAM (1974)

Salmonella-Vorkommen beim Hund

Zbl. Vet. Med. B. 21, 124-130

FULTON, M., B. BLADEL u. M. LESKO (1956)

Salmonella in dogs and cats of a medical school animal colony

Cornell Vet. 46, 245-248

HENNINGER, E. (1934)

Versuche über die Haltbarkeit von Fleischvergiftungserregern in Gefrier-, Salz- und Pökellebern

Zschr. Fleisch-Milchhyg. 44, 84-89

JOHNE, H. (1961)

Die Vermehrung der Salmonellen bei Tiefentemperaturen

Vet. med. Diss. München

KAUFFMANN, F. u. E.J. HENNINGSEN (1939)

A new type of Salmonella from man and dog

Acta path. microbiol. Scand. 16, 99-102

KHAN, A.Q. (1970)

Salmonella infections in dogs and cats in the Sudan

Brit. Vet. J. 126, 607-612

KOOPMANN, J.P. u. F.G.J. JANSSEN (1972)

Eine einfache Methode vom Nachweis von Salmonellen in Hunde- und Katzenkot

Zschr. Versuchstierk. 14, 65-69

KOOPMANN, J.P. u. F.G.J. JANSSEN (1972)

Das Vorkommen und die Behandlung von Salmonellen-Infektionen bei zu Tierversuchen erworbenen Hunden, Katzen und einigen anderen Tierarten

Dt. Tierärztl. Wschr. 79, 218-220

LEISTNER, L., R.H. DEIBEL, J. JOHANTGES u. C.F. NIVEN, jr. (1962)

Beitrag zur Methodik des Nachweises von Salmonellen

Fleischwirtsch. 14, 1160-1171

LEMBKE, A. u. F. WASSERFALL (1963)

Zur Kritik des Kochschen Plattenverfahrens mittels der Varianzanalyse

Kiel. Milchwirtsch. Forsch. ber. 15, 269-282

LORENZ, R.J. (1962)

Über die experimentellen Fehler bei der Volumenabmessung mit Pipetten

Zbl. Bakt. I. Orig. 187, 406

MANN, P.H., I. SAPHRA u. P.B. HUDSON (1953)

Salmonella types found in the mesenteric lymph glands of dogs and cats in New York City and vicinity

Cornell Vet. 43, 463

MANN, P.H., G. BJOTVEDT u. J.W. WINTER (1965)

Additional information pertaining to Salmonella types found in the mesenteric lymph nodes of stray dogs

Canad. J. Compar. Med. and Vet. Sci. 29, 42

MARRON, J.A. u. C.L. SENN (1974)

Dog feces. A public health and environmental problem

J. Environm. Health 37, 239-243

McCRADY, M.H. (1915)

The numerical interpretation of fermentation-tube results

J. Infect. Dis. 17, 183-212

McCRADY, M.H. (1918)

Tables for rapid interpretation of fermentation-tube results

Canad. Public Health J. 9, 201-220

MESSOW, C. u. L. HENSEL (1960)

Die Salmonellose der Karnivoren (Sammelreferat)

Dt. Tierärztl. Wschr. 67, 623-626

MESSOW, C. u. L. HENSEL (1962)

Die Salmonellose des Hundes und ihr Vorkommen im Raum Hannover

Kleintier-Prax. 7, 152-155

MESSOW, C. u. L. STOLL (1954)

Ein Beitrag zur Salmonellose des Hundes

Lebensmitteltierarzt 5, 103-106

PARK, H.S., E.H. MARTH u. N.F. OLSEN (1970)

Survival of Salmonella typhimurium in cold-pack cheese food during refrigerated storage

J. Milk Food Technol. 33/9, 383-388

PARK, H.S., E.H. MARTH, J.M. GOEPFERT u. N.F. OLSEN (1970)

The fate of Salmonella typhimurium in the manufacture and ripening of low-acid cheddar cheese

J. Milk Food Technol. 33/7, 280-284

PIENING, C. (1939)

Weitere Beobachtungen bei der Enteritisbekämpfung

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 703-705

POTEL, K. (1951)

Histologie der Hundestaupe mit besonderer Berücksichtigung der nervösen Form

Exper. Vet. Med. 4, 44-97

PYLE, N.J. (1933)

The bacteriology of spleens in the preparation of the Laidlaw-Dunkin canine distemper prophylactic

J. Amer. Vet. Med. Ass. 83, 618-626

QUEISSER, H.G. (1970)

Salmonella-Vorkommen bei Diensthunden der Bundeswehr

Wehrmed. Mschr. 14, 10-16

REICHERDT (1936)

Vorkommen und Bedeutung von Enteritisbakterien bei Hunden

Zschr. Vet. Med. 48, 465-475

SCHMIDT, O.C. (1970)

Salmonellen bei Hunden

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 83, 396-397

SIEMS, H., G. HILDEBRANDT, T. INAL u. H.-J. SINELL (1975)

Erhebungen über das Vorkommen von Salmonellen bei gefrorenem Schlachtgeflügel auf dem deutschen Markt

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B. 160, 84-97

SINELL, H.-J., G. REUTER u. F. UNTERMANN (1965)

Zur Standardisierung der aeroben Gesamtkeimzahlbestimmung in Fleisch und Fleischerzeugnissen. 1. Mitteilung: Prüfung von Nährböden und Beimpfungsverfahren

Arch. Lebensmittelhyg. 16, 217

STADLER, E. (1951)

Die Sekundärinfektion der Hundestaupe

Vet. med. Diss. München

STRAUCH, D. (1972)

Feste und flüssige Abfälle aus dem landwirtschaftlichen Bereich

in: Veterinärhygiene. 2. Aufl. Hrsg. von E. Roots, H. Haupt u. H. Hartwigk. Parey, Berlin u. Hamburg

SUTMÖLLER, P. u. E.H. KAMPELMACHER (1957)

Salmonella infections of animals on Aruba (Niederland Antilles)

Tijdschr. Diergeneesk. 82, 291-301 u. 351-356

TAYLOR, W.I., J.H. SILLIKER u. H.P. ANDREWS (1958)

Isolation of salmonellae from food samples. I. Factors affecting the choice of media for the detection and enumeration of Salmonella

Appl. Microbiol. 6, 189-193

TESFAMARIAM, H. (1973)

Research on incidences and isolation methods of Salmonella from faecal samples of naturally infected dogs

Vet. med. Diss. Berlin FU

THATCHER, F.S. u. D.S. CLARK (1968)

Microorganisms in foods: their significance and methods of enumeration. Comp. and ed. by F.S. Thatcher and D.S. Clark

Univ. of Toronto Press

UNTERMANN, F. (1967)

Einfluß verschiedener Verdünnungstechniken auf die Ergebnisse der Keimzahlbestimmung in Fleisch und Fleischerzeugnissen

Arch. Lebensmittelhyg. 18, 254-258

UNTERMANN, F. (1970)

Varianzanalytische Untersuchungen über die Fehlergröße der "drop-plating"-Technik bei kulturellen Keimzahlbestimmungen an Lebensmitteln

Zbl. Bakt. I. Orig. 215, 563-571

WINKLE, S. u. W. ADAM (1959)

Über die Lebensdauer von Enterobacteriaceen, insbesondere Salmonellen in künstlich infizierter Margarine

Zbl. Bakt. I. Orig. 174, 364-383

Zum Abschluß meiner Arbeit möchte ich Herrn Prof. Dr. Hartwigk für die Überlassung des Themas und für seine väterliche Betreuung herzlich danken.

Mein Dank gilt auch Herrn Dr. Pietzsch vom Robert von Ostertag-Institut des Bundesgesundheitsamtes Berlin für seinen Rat und seine Hilfe bei der technischen Durchführung der Untersuchungen sowie bei der abschließenden Formulierung des Manuskriptes.

Ferner danke ich Herrn Dr. Katsaras für Rat und freundliche Unterstützung.

Weiterhin danke ich allen Mitarbeitern der Fachrichtung Mikrobiologie für ihr Entgegenkommen und ihre Hilfsbereitschaft.

L e b e n s l a u f

10.10.1938	geboren in Soluk/Libyen
1945 - 1957	Besuch der Volks- und Mittelschule in Soluk/Libyen
1957 - 1960	Besuch des Gymnasiums in Bengasi/Libyen
1960	Abitur
1961 - 1962	Aufenthalt in der Bundesrepublik Deutschland und Erlernung der deutschen Sprache
1962 - 1963	Besuch des Studienkollegs für Ausländer in Frankfurt/Main
1967 - 1972	Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin
1972	Staatsexamen an der Freien Universität Berlin
Dezember 1972	Approbation als Tierarzt
seit Januar 1973	nichtvollbeschäftigter Fleischbeschautierarzt am Vieh- und Schlachthof Spandau